

**DIE VERÄNDERUNG MUSKELSPEZIFISCHER
ENZYME IM ZUSAMMENHANG MIT DER
INTRAMUSKULÄREN VERABREICHUNG VON
MEDIKAMENTEN BEI TIEREN**

Marion Heller

1973

Aus der Medizinischen Klinik
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Komm. Vorstand: Professor Dr. Dr. h.c. K. Ullrich
Arbeit angefertigt unter Leitung von Professor Dr. H. Kraft

DIE VERÄNDERUNG MUSKELSPEZIFISCHER ENZYME IM ZUSAMMENHANG
MIT DER INTRAMUSKULÄREN VERABREICHUNG VON MEDIKAMENTEN
BEI TIEREN

Modellversuche bei Ratten

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Marion Heller
aus
München

München 1973

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan : Prof. Dr. E.Dahme
Referent : Prof. Dr. H.Kraft
Korreferent: Priv.-Doz. Dr. D.Stavrou

Tag der Promotion: 27. Juli 1973



Inhalt

	Seite
I. EINLEITUNG	1
II. LITERATUR	2
1) Allgemeines über Serumenzyme	2
2) spezielle Literaturübersicht über Serumenzyme bei Muskelerkrankungen	7
III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	12
1) Material und Methodik	12
2) Ergebnisse	16
IV. DISKUSSION	33
V. ZUSAMMENFASSUNG	43
SUMMARY	45
VI. LITERATURVERZEICHNIS	47



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41556029_0019

I. EINLEITUNG

Bei der Untersuchung stationärer Patienten der Medizinischen Tierklinik in München bestand auf Grund klinischer Beobachtungen der Eindruck, daß intramuskuläre Injektionen von Medikamenten, die der Therapie dienen sollten, das Serumenzymbild der betreffenden Tiere in einer nicht dem Krankheitsverlauf entsprechenden Weise beeinflussten.

Bei Pferden mit Kolikerscheinungen führte man z.B. zu Beginn der Behandlung eine Enzymuntersuchung durch, die einige Zeit später, nachdem man den Tieren verschiedene Medikamente intramuskulär verabreicht hatte, wiederholt wurde.

Die erste Untersuchung ergab oft Hinweise auf eine Leberschädigung. Bei der folgenden Untersuchung, die nach Abklingen der äußeren Krankheitssymptome vorgenommen wurde, traten im Serum erhöhte Aktivitäten von Enzymen auf, die in keiner Weise zu dem ursprünglichen Krankheitsbild passeten, und über deren Herkunft man sich nicht sicher war.

Es wurde vermutet, daß durch zahlreiche intramuskuläre Injektionen eine Muskelschädigung eingetreten und damit eine erhöhte Aktivität "muskelspezifischer" Enzyme im Serum nachzuweisen war, die das primäre Enzymmuster verzerrten.

In der Literatur waren darüber keine Angaben zu finden. Sinn der vorliegenden Arbeit ist es, mit der Untersuchung von Serumenzymen in Zusammenhang mit der intramuskulären Verabreichung von Medikamenten als Modellversuch bei Ratten dieses Problem zu verfolgen.

II. LITERATUR

1) Allgemeines über Enzyme

Enzyme sind Katalysatoren der lebenden Zelle; die Gesamtheit der chemischen Umsetzungen im Organismus, die wir Stoffwechsel nennen, ist nur möglich durch die Anwesenheit - oder besser gesagt - die Wirkung dieser Katalysatoren, die wir Enzyme nennen. (KARLSON, 15)

Vom klinischen Standpunkt aus unterteilt man die Enzyme in Sekretenzyme und Zellenenzyme. Die Sekretenzyme werden aktiv von den Zellen in das Plasma (plasmaspezifische Enzyme) oder in den Verdauungstrakt sezerniert, wo sie ihre Wirkung entfalten. (FREUDIGER, 6)

Nach SCHOEN und SÜDHOF (28) werden Enzyme, die in den Zellen ihre Funktion erfüllen, unter Energieaufwand an den strukturellen Elementen der Zelle festgehalten. Störungen im Energiehaushalt verändern die Haftfähigkeit der Enzyme und lassen sie in den extrazellulären Raum übertreten. Frei im Zellplasma angeordnete Enzyme können bei Permeabilitätsänderung der Zellwand die Zelle verlassen. Ursache für diese Störung ist, daß z.B. Stoffwechselgifte den Energiehaushalt der Membran stören und ihre Permeabilität erhöhen, KRÖNER (19) oder daß, wie HIGHMAN (14) und GRAY (9) berichten, die Permeabilitätsänderung durch eine streßbedingte Katecholaminausschüttung hervorgerufen wird.

Kommt es im Verlauf von Erkrankungen zur Nekrose von Zellen, so wird man einen erheblichen Anstieg der Enzymaktivität erwarten können, der mit dem Ausmaß der Nekrose korreliert. (SCHOEN, SÜDHOF, 28)

Im Serum kommen diesen Enzymen keine Funktionen zu; sie werden außerhalb der Zelle sehr rasch inaktiviert.

Die meisten Zellenzyme, deren Bestimmung Wert für die medizinische Diagnostik hat, gehören zu den Grundstoffwechselketten: sie sind also in allen Zellen des Organismus vorhanden. Die einzelnen Organe sind aber entsprechend ihrer verschiedenen Funktionen mit diesen Enzymen unterschiedlich gut ausgestattet. Nicht nur die absolute Höhe der Enzymaktivität

variiert von Organ zu Organ, sondern auch das mengenmäßige Verhältnis der einzelnen Enzyme untereinander.

(nach SCHMIDT, 27)

Voraussetzung für die Verwendbarkeit eines Enzyms für die Organdiagnostik ist, daß es ausschließlich oder vorwiegend in diesem Organ vorkommt. Bei einigen Enzymen, den sogenannten organspezifischen Enzymen, kann der Aktivitätsunterschied so extrem werden, daß sie praktisch nur in einem Organ des ganzen Körpers auftreten. (FREUDIGER, 6) Zu diesen Enzymen zählen SDH, die nur in der Leber, und CPK, die nur in der quergestreiften Muskulatur wesentliche Aktivitäten aufweist. (SCHMIDT, 27, ABDERHALDEN, 1) Zu der Feststellung der unterschiedlichen Konzentration der einzelnen Enzyme in den Organen kommt hinzu, daß sie auch in ihrer intrazellulären Verteilung Unterschiede aufweisen. (SCHMIDT, 27)

Die GPT ist ausschließlich im Zytoplasma, die GOT im Zytoplasma und in den Mitochondrien, die GLDH ausschließlich in den Mitochondrien lokalisiert.

Je schwerer die Zelldegeneration wird, desto mehr treten wegen Mitochondrienschädigung auch die GOT und GLDH ins Plasma über. (FREUDIGER, 6)

Die im Serum gemessenen Aktivitäten von GOT und GPT lassen folglich Schlüsse auf den Grad einer Zellschädigung zu.

Die Enzymverteilung in den Organen (Organenzymmuster) ist bei den einzelnen Spezies verschieden, wie ein Vergleich der Organenzymmuster von Hund, Katze, Pferd und Mensch zeigt.

(FREUDIGER, 6)

Die höchste GPT-Aktivität kommt bei Mensch, Hund und Katze der Leber zu. Danach folgen mit bedeutend geringeren Aktivitäten Niere und Herzmuskel. Beim Pferd hingegen liegt die höchste Aktivität in der Skelettmuskulatur und nur zu 20 % in der Leber. Das erklärt, weshalb die GPT beim Pferd für die Leberdiagnostik nicht verwertbar ist.

Die GOT ist bei Mensch und Katze in größter Aktivität in der Leber zu finden, gefolgt vom Herzmuskel mit 88 % bzw. 78 %. Beim Hund kommt die GOT vor allem im Herzmuskel vor; mit Abstand folgt die Leber mit nur ca. 1/3 der Herzmuskelaktivität.

Folglich kann bei Mensch, Katze und Hund die GPT als ziemlich leberspezifisch betrachtet werden, wohingegen die GOT auch stärker von Störungen anderer Organe beeinflusst wird.

Bei Leberschädigungen ist der GPT-Anstieg zu Beginn stärker als derjenige der GOT. Das Überwiegen der GPT erklärt sich hierbei nicht nur durch die höhere Aktivität in der Leber, sondern auch durch die oben genannte intrazelluläre Enzymlokalisation.

Bei stärkerer Leberschädigung kann aber die GOT-Aktivität diejenige der GPT übertreffen. Zusammen mit der GOT steigt in diesem Fall die GLDH (Glutamatdehydrogenase) an.

Vorkommen und katalysierte Reaktionen der untersuchten Enzyme (SCHOEN, SÜDHOF, 28)

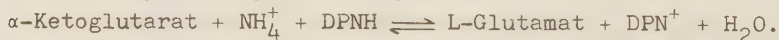
1) CPK (Creatinphosphokinase)

Das muskelspezifische Enzym katalysiert die Reaktion
 $\text{Creatin} + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{Creatinphosphat} + \text{ADP}.$

Die CPK kommt in sehr hoher Konzentration in der quergestreiften Muskulatur vor. Ein Anstieg ihrer Aktivität im Serum ist demgemäß bei Schädigung der Skelett- oder der Herzmuskulatur zu erwarten. Besonders ausgeprägt ist ihr Aktivitätsanstieg im Serum bei progressiver Muskeldystrophie (16, 27) vom Typ Duchenne-Aran. Bei den übrigen Muskeldystrophien ist die Aktivität nur wenig erhöht, ebenso bei Myositis und myotoner Dystrophie. (16) Bei Herzinfarkt steigt die CPK-Aktivität schon 2 - 4 Std. nach Infarkteintritt auf hohe Werte an.

2) GLDH (Glutamatdehydrogenase)

Dieses Enzym katalysiert folgende Reaktion



Beim Säugetier trifft man das Enzym am reichlichsten in der Leber an, der Enzymgehalt der Muskulatur ist nur sehr gering.

Die GLDH ist ausschließlich in den Mitochondrien lokalisiert, nur bei Leberzellenekrosen kommt es zu einem Anstieg im Serum, so bei akuter Hepatitis, beim Coma hepaticum und beim Verschlußikterus.

3) SDH (Sorbitdehydrogenase)

Dieses "leberspezifische Enzym" katalysiert die Reaktion
$$\text{D-Fructose} + \text{DPNH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{D-Sorbit} + \text{DPN}^+$$

Außer in der Leber kommt die SDH in Prostata, Niere, in geringen Mengen in Herz- und Skelettmuskulatur vor. Im physiologischen Serum ist kaum Aktivität nachweisbar. Ein Serumanstieg deutet mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine akute Parenchymschädigung in der Leber hin. Beim Coma hepaticum kann die SDH-Aktivität im Serum beträchtlich zunehmen. Nach LETTOW (22) sind auch bei der Ratte in der Leber bedeutend höhere Aktivitäten zu finden als in Niere, Herz und Skelettmuskel.

4) LDH (Lactatdehydrogenase)

$$\text{Lactat} + \text{DPN}^+ \rightleftharpoons \text{Pyruvat} + \text{DPNH} + \text{H}^+$$

Vorkommen: Niere > Herz > Skelettmuskel > Pankreas > Milz > Leber > Lunge > Serum.

Die Lactatdehydrogenase ist eines der Enzyme, die im Serum die höchste Aktivität aufweisen. Erhöhte Enzymaktivitäten werden bei Leukose gefunden, besonders eindrucksvoll ist der Aktivitätsanstieg bei perniziöser Anämie. Auch bei progressiver Muskeldystrophie vom Typ Duchenne ist die LDH-Aktivität gesteigert (SHAPIRA, 26), ebenso bei Herzinfarkt. Trotz starker Erhöhung der Enzymaktivität bei Lebererkrankungen kommt ihr differentialdiagnostisch keine große Bedeutung zu; erst ein gleichzeitiger Aktivitätsabfall der Transaminasen deutet auf ein beginnendes Leberkoma.

Die LDH-Aktivität beruht auf der Anwesenheit eines Gemisches multipler molekularer Formen, der sogenannten Isoenzyme, die eine gemeinsame Wirkungs- und Substratspezifität aufweisen.

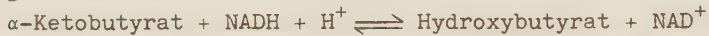
Es handelt sich bei der LDH um ein Tetramerenzym, bzw. um zwei alternative Monomertypen (H = Herztyp und M = Muskeltyp), wodurch sich 5 Kombinationsmöglichkeiten ergeben, die von den Isoenzymen LDH₁ bis LDH₅ dargestellt werden.

Das Verhältnis der LDH-Enzymaktivitäten ist untereinander von Organ zu Organ verschieden. Bei Schädigung eines be-

stimmten Organs findet sich eine typische Isoenzym-Kombination auch im Serum wieder.

Eine Auftrennung der LDH-Isoenzyme ist auf Grund ihrer unterschiedlichen elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit möglich.

5) LDH-1-Isoenzym = α -HBDH (α -Hydroxybutyrat - Dehydrogenase)
Das Isoenzym 1 der LDH katalysiert die wasserstoffübertragende Reaktion:



Die Isoenzymzusammensetzung der verschiedenen Gewebe ist unterschiedlich. Herz, Niere und Erythrozyten enthalten überwiegend LDH₁ und LDH₂, Skelettmuskel und Leber überwiegend LDH₄ und LDH₅.

Um die relative Vermehrung bzw. den Anteil des LDH-Isoenzyms 1 auch bei normalen Aktivitäten in der Gesamt-LDH zu erkennen, mißt man die LDH-Aktivität und die HBDH-Aktivität und setzt sie zueinander in Beziehung. Der Quotient HBDH/LDH liegt beim Menschen im Herzmuskel bei 1, im Lebergewebe und in der Skelettmuskulatur zwischen 0,3 und 0,4.

Hauptanwendungsgebiet ist die Diagnose des Herzinfarktes.

6) GOT (Glutamat-Oxalacetat-Transaminase)

Dieses Enzym katalysiert die Reaktion



Eine Erhöhung der GOT-Aktivität ist besonders eindrucksvoll bei Lebererkrankungen. Das Enzym ist in Mitochondrien und Zytoplasma enthalten und kann schon durch Permeabilitätsänderungen und Störungen im Zellstoffwechsel in den extrazellulären Raum übertreten. Auch bei frischem Herzinfarkt zeigt sich 4 - 6 Std. nach Infarkteintritt eine Erhöhung der GOT-Aktivität. (ABDERHALDEN, 1)

Die Aktivitätsbestimmung der GOT hat in zunehmendem Maße für die Diagnostik und Therapiekontrolle von Leber- und Herzerkrankungen Anwendung gefunden. Auch bei anderen Erkrankungen, wie akuter Pankreatitis, Skelettmuskeltraumen und anderen primären Muskelerkrankungen, insbesondere bei progressiver Muskeldystrophie kommen erhöhte Werte der GOT-Aktivität vor. (PEARSON, 25)

7) GPT (Glutamat-Pyruvat-Transaminase)

Katalysiert die Reaktion

$\text{L-Glutamat} + \text{Pyruvat} \rightleftharpoons \text{L-Alanin} + \alpha\text{-Ketoglutarat}$

Dieses Enzym kommt ubiquitär vor und ist nur im Zytoplasma der Zellen enthalten.

Zur Diagnose von Lebererkrankungen haben sich vor allem die Aktivitätsbestimmungen der beiden Transaminasen bewährt.

Aus der Lokalisation der beiden Transaminasen, die je nach dem Grad der Zellschädigung eine unterschiedliche Freisetzungsrates bedingt, ergeben sich wertvolle diagnostische Hinweise bei den verschiedenen Lebererkrankungen. Bei Herz- und Skelettmuskelschäden, wie progressiver Muskeldystrophie (besonders vom Typ Duchenne-Aran) wird ebenfalls eine Erhöhung der Transaminaseaktivität nachgewiesen.

DE RITIS führte zur leichteren Beurteilung der beiden Transaminasen zueinander den Quotienten aus GOT/GPT ein, der nach ihm benannt wurde. Wenn bei einem Patienten der DE RITIS-Quotient unter 1,0 absinkt, so liegt die Annahme nahe, daß eine akute Leberschädigung vorliegt. Andererseits kann eine Erhöhung des DE RITIS-Quotienten über 1,0 ein Hinweis auf eine progrediente Leberschädigung oder eine beginnende Komplikation des Krankheitsgeschehens vom Herzen her sein.

2) Serumenzyme bei Muskelerkrankungen

Bei Überanstrengung, oder Operationen mit Traumatisierung der Muskulatur kommt es vorübergehend zu einem Aktivitätsanstieg von einigen Enzymen im Serum. (21, 31)

Schon schwere körperliche Arbeit kann nach SCHMIDT (27) z.B. die Aktivität der GOT und LDH um 50 % ihres Ausgangswertes erhöhen. Noch empfindlicher reagiert hier die CPK; der Grund hierfür ist in ihrer hohen Konzentration im Skelettmuskel und ihrem kleinen Molekulargewicht zu suchen.

Bei schweren traumatischen Schädigungen kommt es im Serum leicht zu Anstiegen besonders solcher Enzyme, die in der Muskulatur mit hoher Aktivität vertreten sind, wie CPK und GOT. (32)

Auch LIEBERMAN (23) fand bei schweren Unfällen mit Knochenbrüchen und Quetschungen wenige Stunden nach dem Unfall einen Anstieg der GOT-Aktivität im Serum, der nach 2 Tagen wieder zur Norm abfällt.

KELLER und GERBER (17) haben Serumenzyme bei Skelettmuskel-läsionen durch operativ gesetzte Schäden beobachtet und kamen zu dem Ergebnis, daß sich auch beim Rind die Diagnose akuter Muskelschäden am empfindlichsten mit der Bestimmung der CPK-Aktivität sichern läßt, allerdings unter der Voraussetzung, daß die betreffende Läsion frisch ist, oder daß eine andauernde Schädigung bisher gesunder Muskelzellen stattfindet. Außerdem kann der rasche Aktivitätsabfall zur Norm, der für CPK charakteristisch ist, zu Fehlschlüssen verleiten. Die ubiquitären Enzyme (GOT, GPT, LDH) verhielten sich bei den obengenannten Versuchen in der Regel in nicht voraussehbarer Weise. Eine unerwartete Reaktion der SDH und GLDH ist nach operativen Eingriffen auf die Belastung durch Operation und postoperative Heilungsvorgänge zurückzuführen, die schon an sich mit dem Auftreten einer Leberzellschädigung verbunden zu sein scheinen.

Auch SCHMIDT (27) führt in solchen Fällen ein Serumenzymmuster mit deutlich erhöhter GPT und SDH neben der Muskelverletzung auf sekundäre Schädigung der Leber zurück.

CORNELIUS (3) bestätigt mit seinen Resultaten die früheren Befunde GÜRTLERS (8), daß bei der paralytischen Myoglobininurie der Pferde in kurzer Zeit ein Anstieg beider Serumtransaminasen auf hohe Werte erfolgt. Der Grad der Erkrankung und der Aktivitätsanstieg scheinen sich in etwa zu entsprechen. Der Abfall der GOT auf den Normalwert geht hier über längere Zeit (2 - 3 Monate) kontinuierlich vor sich.

Die CPK reagiert bereits 1 - 2 Std. nach dem Auftreten klinischer Symptome sehr stark und steigt auf das 30 - 60fache der Norm an. Auch hier stellt sie einen empfindlichen und rasch reagierenden Indikator von Skelettmuskelschäden dar.

Ein GOT- und GPT-Anstieg liegt auch nach HANSEN (10) bei allen Arten von akuten Myopathien der Pferde vor; bei wiederholter Prüfung ist ein schnelles und deutliches Absinken der Enzymaktivität festzustellen.

Bei der White-muscle-disease kommt es außer einem CPK-Anstieg (7) zu einem signifikanten Anstieg der GOT-Aktivität, der einigermaßen proportional zur Ausdehnung der muskulären Veränderung verläuft.

KELLER et al (18) haben bei Kühen mit puerperaler Hypokalzämie eine Hyperenzymämie beobachtet, die dem Grad der Symptome entsprechend bei einfachem Festliegen weniger ausgeprägt ausfiel, als bei Milchfieber und die anscheinend zur Hauptsache auf Skelettmuskelläsionen zurückzuführen ist.

Zwischen dem Grad der Hypokalzämie und den Aktivitäten der CPK im Serum besteht eine signifikante Korrelation.

Es wird vermutet, daß die Hypokalzämie eine direkte Wirkung auf die Muskelzellmembran im Sinn einer erhöhten Durchlässigkeit ausübe.

Nach LAUDHAN (21) ist eine Abhängigkeit der Aktivitätsmuster vom Progredienzgrad und der Dauer der Erkrankung zu erkennen. Neben der CPK wird nach GERBER (7) die Messung der GOT-Aktivität als spezifisches Indiz von Muskelschädigungen angesehen, wenn Leberschäden ausgeschlossen werden können.

Normalwerte aus der Literatur für Ratten

In der Fachliteratur sind bei der Angabe der Normalwerte für Enzymaktivitäten im Serum der Ratte z.T. unterschiedliche Daten zu finden. Diese Werte sind schwer zu vergleichen, da sie durch verschiedenartige Methoden bestimmt wurden und zudem oft keine Angaben über die Blutgewinnung vorliegen.

Nach HEROLD und KEMPER (12) ist außerdem bei der Feststellung mancher Enzyme, auf jeden Fall aber der Transaminaseaktivitäten, der Geschlechtsunterschied zu beachten.

Tabelle 1: Normalwerte der Ratten aus der Literatur

Autor	Enzym	Aktivität		Einheit	Bemerkungen
		männl.	weibl.		
HEBOLD (11)	GPT	13,14	12,57	mU/ml	retroorb.Venenplexus Gew. 133/117 g KG
HEROLD (12)	GOT	96,0	85,7	mU/ml	Dek. 220/195 g KG
		74,8	78,6	mU/ml	Dek. 405/280 g KG
	GPT	7,0	8,2	mU/ml	Dek. 220/195 g KG
		10,0	9,6	mU/ml	Dek. 405/280 g KG
METHFESSEL (24)	GPT	24,7	± 8,4	mU/ml	Blutgew. unbekannt
	LDH	324,4	± 74,1	mU/ml	Blutgew. unbekannt
WEIGERT (30)	GOT	44,1	40,5	mU/ml	Freilegung d.Aorta-abd.
	GPT	17,35	14,13	mU/ml	Freilegung d.Aorta-abd.
	DeRitis	2,49	2,86	mU/ml	Freilegung d.Aorta-abd.
	LDH	303,2	214,6	mU/ml	Freilegung d.Aorta-abd.
	LDH ₁	87,4	62,0	mU/ml	Freilegung d.Aorta-abd.
	LDH ₁ /LDH	0,29	0,34	mU/ml	Freilegung d.Aorta-abd.
	SDH	1,91	1,86	mU/ml	Freilegung d.Aorta-abd.
BERNS (2)	GPT	25,0		WE	Herzpunktion
FÖRG (5)	GOT	37,0	37,0	mU/ml	Art. carotis
	GPT	ca 10,0	ca 9,5	mU/ml	Art. carotis

KLINGER (19) hat bei seinen Versuchen die Kontrolltiere intra-peritoneal mit Rapsöl behandelt und kam zu folgenden Ergebnissen:

GOT	ca	18,0	mU/ml	Dekapit.
GPT	24,0	- 27,0	mU/ml	Dekapit.
SDH	2,0	- 6,3	mU/ml	Dekapit.
LDH	160,0	-210,0	mU/ml	Dekapit.

Allgemeines über die therapeutische Wirkung von zytoplasmatischen Substanzen (aus Vitorgan-Informationen (29))

Die Therapie mit zytoplasmatischen Substanzen ist die praktische Konsequenz aus Forschungsergebnissen der Immunologie und der Molekularbiologie. Erstmals wird hier das von THEURER erkannte Prinzip der organspezifischen Desensibilisierung und der dosierten immunobiologischen Reize mit hochmolekularen tierischen Organextrakten angewandt. Gleichzeitig wirkt diese Therapie molekular regenerativ. Es kommen Bestandteile des Zellkernes und des Zellkörpers in Form von Nucleinsäuren, Nucleoproteiden, Lipiden, Enzymen, Eiweißbausteinen und Polysacchariden zur Anwendung. Diese können von geschädigten Zellen unmittelbar aufgenommen werden.

Neben einer Wiederherstellung und Erneuerung von geschädigten Zellen kann die immunologische Reaktionslage des Körpers beeinflußt werden.

Es wurden umfangreiche tierexperimentelle Untersuchungen vorgenommen, nach deren positiven Ergebnissen die zytoplasmatische Therapie auch bei Patienten der Medizinischen Tierklinik in München mit bestem Erfolg angewendet wurde.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1) Material und Methodik

Von 202 weißen Ratten beiderlei Geschlechts wurden insgesamt 1365 Enzymaktivitäten gemessen. Wegen ungenügender Serummenge konnten z.T. nicht bei jeder Ratte alle betreffenden Enzyme untersucht werden.

Die Enzymbestimmungen wurden mit einem Filterphotometer der Firma Eppendorf im UV-Test durchgeführt.

Die Enzymaktivitäten von CPK, GOT und GPT wurden mit dem "Monotest" der Firma Boehringer, Mannheim, die Aktivitäten von SDH, LDH, LDH₁ und GLDH mit den entsprechenden Testsätzen derselben Firma bestimmt.

Blutgewinnung bei der Ratte:

Eine sehr brauchbare Methode ist die von WEIGERT (30) beschriebene Entblutung über die Aorta abdominalis.

Dabei wird die Aorta in Allgemeinnarkose durch einen medianen Bauchschnitt freigelegt und kranial abgeklemmt.

Nachdem das Gefäß mit einer kleinen Schere angeschnitten ist, wird ein mit einem Tropfen Antikoagulans (Liquemin^R) benetzter PVC-Schlauch eingeführt. Nach Öffnen der Klemme schießt das Blut durch den Katheder in das Auffanggefäß. Bei dieser Blutgewinnungsmethode ist meistens genügend Blut zu bekommen, um die verschiedenen Messungen durchführen zu können. Zudem kann mit etwas Übung in 2 - 3 Minuten entblutet werden.

Die zur Entblutung nötige Allgemeinnarkose erreichte ich durch die intraperitoneale Applikation von 0,1 - 0,25 ml eines Pentobarbiturates (Narcoren^R).

Eigene Normalwerte:

Da in der Literatur die Angaben der verschiedenen Autoren stark voneinander abweichen, bestimmte ich von 20 Ratten selbst die "Normalwerte", um Vergleichsmöglichkeiten zu haben (Tab. 2).

Modellversuche:

Ohne Berücksichtigung des Körpergewichts wurden 107 männlichen und weiblichen Ratten verschiedene Mengen der Präpa-

rate Chinovetol^R bzw. Leukomycin^R (20 %) intramuskulär in den Oberschenkel verabreicht.

Die Messungen der verschiedenen Enzymaktivitäten wurden nach 1 Stunde, z.T. nach 12 Stunden und nach 24 Stunden vorgenommen. Die dabei gewonnenen Ergebnisse sind in den Tabellen 8 - 17 und 24 - 31 aufgeführt.

Daneben führte ich bei 45 Ratten 3 Tage lang eine Vorbehandlung mit je 0,1 ml Revitorgan Dilution Nr. 96 (Muskulatur) subkutan durch, um die Wirkung auf die folgende intramuskuläre Injektion von 1,0 ml Chinovetol^R zu beobachten. Die Entblutung erfolgte nach 1 Stunde und nach 24 Stunden.

Die dabei festgestellten Werte sind in den Tabellen 20 - 23 zu finden.

Zur Bestimmung der Aktivitätsänderung von Enzymen, die durch Revitorgan Dilution allein hervorgerufen wird, entblutete ich 10 Ratten, denen 3 Tage lang je 1,0 ml Revitorgan Dilution Nr. 96 (Muskulatur) subkutan appliziert worden war (Werte siehe Tabelle 18 und 19).

Außerdem wurde 20 Ratten je 1,0 ml physiologische Kochsalzlösung intramuskulär injiziert, um die Muskelschädigung zu bestimmen, die durch den Druck der Flüssigkeitsmenge im Gewebe hervorgerufen wird. Diese Werte sind in den Tabellen 4 - 7 aufgeführt.

Statistik:

Es wurden folgende statistische Werte ermittelt:

- der arithmetische Mittelwert ($\bar{x}$)
- der eventuelle "gestutzte Mittelwert" mit Ausweisung der Ausreißer in den Versuchsreihen
- die zu den jeweiligen Mittelwerten gehörenden Standardabweichungen (s)
- die entsprechenden Varianzen (s^2)

Die statistische Auswertung der Versuche wurde mit Hilfe folgender Verfahren vorgenommen:

a) Ausreißereliminierung

Durch nachstehende Verfahren wurde getestet, ob ein als Ausreißer verdächtiger Extremwert einer anderen Grundgesamtheit angehört:

Bei $n \leq 25$ wurde der DIXON-Test (4) angewendet:

Nach Ordnung der Stichprobenwerte $x_1 < x_2 < \dots < x_n$
bzw. $x_1 > x_2 > \dots > x_n$

wobei x_1 als Extremwert gilt, wird der Testquotient der Tabelle entsprechend bestimmt.

Falls er den Tabellenwert ($\alpha = 0,05$) überschreitet, wird der Wert x_1 als Ausreisser behandelt.

Bei $n > 25$ kam der Test nach PEARSON und HARTLEY (25) zur Anwendung. Falls $\frac{x_1 - \bar{x}}{s}$ größer ist als der Tabellenwert, wird der Wert x_1 als Ausreisser behandelt.

b) Messreihenauswertung:

Die einzelnen Messreihen werden daraufhin untersucht, ob sie gleichen oder verschiedenen Grundgesamtheiten angehören, d.h. ob gewisse Medikamente signifikanten Einfluß auf die Messgrößen ausüben.

Da Grundgesamtheiten im wesentlichen durch die Parameter Mittelwert und Standardabweichung charakterisiert werden, wurden für die untersuchten Messreihen 95 % - Vertrauensintervalle für die Mittelwerte μ berechnet.

Ein P%-Vertrauensintervall überdeckt mit einer Wahrscheinlichkeit von P% den (unbekannten) Erwartungswert μ (arithmetischer Mittelwert der Grundgesamtheit).

Überlappen sich diese Vertrauensbereiche zweier Messreihen nicht, so kann die Hypothese, daß beide Messreihen gleichen Grundgesamtheiten angehören, mit entsprechender Ausgawahrscheinlichkeit abgelehnt werden.

Die Vertrauensbereiche werden mit Hilfe der Student-Verteilung berechnet.

$\frac{\bar{x} - \mu}{s/\sqrt{n}}$ ist Student-verteilt mit $(n-1)$ Freiheitsgraden. Mit einer Wahrscheinlichkeit von P% gilt:

$$\bar{x} - t_{P\%}^{n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \leq \mu \leq \bar{x} + t_{P\%}^{n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Die entsprechenden P% - Fraktilen $t_{P\%}^{n-1}$ der Student-Verteilung wurden einer Tabelle entnommen.

Für Reihen, deren Vertrauensbereiche sich überlappten, wurde der t-Test durchgeführt. Da dieser nur bei gleichen Varianzen

anzuwenden ist, wurde die Gleichheit der Varianzen mit der F-Verteilung überprüft. Bei ungleichen Varianzen wurde auf die statistische Auswertung verzichtet.

- c) Einen schärferen Test, ob eine Größe signifikanten Einfluss auf eine Grundgesamtheit ausübt, stellt die Varianz-Analyse dar. Dabei wird die Streuung der Messwerte innerhalb einer Messreihe verglichen mit der Streuung der Messreihen-Mittelwerte.

Die Varianz-Analyse wurde für wichtige Messreihengruppen durchgeführt mit einer Aussagewahrscheinlichkeit von 99 %. Dabei wurde als Einflussgröße die Zeit, die zwischen der Applikation des Medikaments und dem Zeitpunkt der Messung verstrichen war, angesehen. Die Messreihe ohne Medikament entsprach der Zeit ∞ .

Die beobachteten Werte werden mit den Tabellenwerten verglichen; die Hypothese, daß die Einflußgröße (Medikament) keinen Einfluß auf die Grundgesamtheit ausübt, wird abgelehnt, falls der beobachtete Wert den Tabellenwert überschreitet.

2) Ergebnisse

Tabelle 2: Normalwerte der Ratten, die bei den Modellversuchen verwendet wurden

CPK	GLDH	SDH	LDH	LDH ₁	GOT	GPT	DeRit.	LDH ₁ /LDH
231	1,4	1,8	175	39	49	16	3,06	0,22
141	0,2	0,9	292	47	36	12	3,00	0,16
116	0,9	1,6	166	39	45	17	2,64	0,23
61	-	5,3	230	23	27	11	2,45	0,10
-	2,5	0,5	166	31	53	27	1,96	0,18
108	2,7	1,8	221	47	38	18	2,11	0,21
58	0,8	2,7	92	24	40	19	2,10	0,26
241	2,1	0,9	211	31	36	12	3,00	0,14
112	0,8	1,2	230	39	51	25	2,04	0,16
141	1,6	2,0	221	39	42	16	2,62	0,17
435	-	0,5	390	87	53	11	4,81	0,22
124	-	2,3	84	39	36	14	2,57	0,46
85	0,1	2,0	124	31	38	16	2,37	0,25
61	-	1,6	108	31	37	14	2,64	0,28
85	0,6	1,4	124	47	40	16	2,50	0,37
100	1,6	3,2	255	83	40	20	2,00	0,32
167	0,8	2,2	297	112	49	25	1,96	0,37
145	2,9	1,1	221	96	40	19	2,10	0,43
92	1,8	1,6	104	63	58	40	1,45	0,60
184	1,6	1,7	108	87	24	23	1,04	0,80

Tabelle 3: Auswertung von Tabelle 2

Enzym	$\bar{x}$	s	n	Vertr.ber.
CPK	125,0	53,5	18	$\pm 23,6$
GLDH	1,40	0,85	16	$\pm 0,45$
SDH	1,63	0,7	19	$\pm 0,34$
LDH	191,0	81,0	20	$\pm 37,85$
LDH ₁	52,0	26,0	20	$\pm 12,15$
GOT	42,0	8,6	20	$\pm 4,02$
GPT	17,4	4,7	19	$\pm 2,26$
DeRit.	2,30	0,52	19	$\pm 0,25$
LDH ₁ /LDH	0,27	0,13	19	$\pm 0,06$

Tabelle 4: Behandlung mit 1,0 ml phys.NaCl i.m. -- 1 h-Werte

CPK	GLDH	SDH	LDH	LDH ₁	GOT	GPT	DeRit.	LDH ₁ /LDH
124	0,8	3,0	241	72	32	16	2,0	0,30
23	1,5	0,5	182	43	45	26	1,73	0,23
46	1,5	0,9	153	14	39	26	1,50	0,09
167	1,4	0,8	256	57	56	29	1,93	0,22
15	0,9	1,0	111	29	42	22	1,90	0,26
15	-	1,5	83	14	35	19	1,84	0,16
1364	0,4	0,6	3091	155	62	25	2,48	0,05
124	1,7	0,5	124	31	34	23	1,47	0,25
1463	0,7	0,3	1012	146	65	21	3,09	0,14
108	0,8	0,2	69	16	47	27	1,74	0,23
61	0,9	0,5	84	24	40	21	1,90	0,28

Tabelle 5: Auswertung von Tabelle 4

Enzym	$\bar{x}$	s	n	Vertr.ber.
CPK	76,0	56,0	9	$\pm$ 43,12
GLDH	1,06	0,42	10	$\pm$ 2,26
SDH	0,68	0,39	10	$\pm$ 0,28
LDH	145,0	69,0	9	$\pm$ 53,13
LDH ₁	33,0	20,0	9	$\pm$ 15,40
GOT	45,0	11,3	11	$\pm$ 7,60
GPT	23,2	3,9	11	$\pm$ 2,62
DeRit.	1,96	0,46	11	$\pm$ 0,31
LDH ₁ /LDH	0,20	0,08	11	$\pm$ 0,05

Tabelle 6: Behandlung mit 1,0 ml physiol.NaCl i.m. - 24h-Werte

CPK	GLDH	SDH	LDH	LDH ₁	GOT	GPT	DeRit.	LDH ₁ /LDH
149	0,5	2,3	271	87	45	19	2,36	0,32
108	0,3	2,3	96	47	53	25	2,12	0,48
158	0,3	6,8	240	71	60	25	2,40	0,29
108	0,3	2,3	92	47	47	23	2,04	0,51
69	0,6	2,3	92	47	42	29	1,44	0,51
53	2,7	0,9	271	39	42	12	3,50	0,14
1072	1,0	0,9	126	116	73	21	3,47	0,92
77	1,2	2,1	404	39	65	16	4,06	0,09
108	1,8	2,9	175	31	45	18	2,50	0,17

Tabelle 7: Auswertung von Tabelle 6

Enzym	$\bar{x}$	s	n	Vertr.ber.
CPK	104,0	37,0	8	$\pm$ 30,87
GLDH	0,97	0,82	9	$\pm$ 0,63
SDH	2,0	0,71	8	$\pm$ 0,59
LDH	205,0	112,0	8	$\pm$ 93,45
LDH ₁	58,0	28,0	9	$\pm$ 21,56
GOT	52,0	11,0	9	$\pm$ 8,47
GPT	20,9	5,2	9	$\pm$ 4,00
DeRit.	2,65	0,84	9	$\pm$ 0,65
LDH ₁ /LDH	0,31	0,17	8	$\pm$ 0,14

Tabelle 8: Behandlung mit 0,5 ml Chinovetol i.m. - 1 h-Werte

CPK	GLDH	SDH	LDH	LDH ₁	GOT	GPT	DeRit.	LDH ₁ /LDH
482	1,3	3,0	397	87	87	23	3,78	0,21
384	1,0	2,3	250	63	78	23	3,39	0,25
336	0,2	1,7	339	63	58	19	3,05	0,18
289	0,2	2,1	184	55	64	23	2,78	0,29
409	1,2	3,2	315	87	70	21	3,33	0,27
351	0,4	2,0	271	53	128	15	1,53	0,19
409	0,7	2,1	286	55	62	16	3,87	0,19
409	1,8	2,7	184	55	92	22	4,18	0,29
338	1,0	2,5	230	71	38	31	1,22	0,30
328	1,1	-	230	63	70	19	3,68	0,27
435	0,9	4,7	303	79	90	23	3,91	0,26
331	3,9	3,0	287	38	81	18	4,50	0,13
367	3,9	3,3	440	142	80	16	5,00	0,32
304	2,4	3,0	240	75	84	19	4,42	0,31
312	3,9	2,8	404	59	148	19	7,78	0,14

Tabelle 9: Auswertung von Tabelle 8

Enzym	$\bar{x}$	s	n	Vertr.ber.
CPK	366,0	54,0	15	$\pm$ 29,84
GLDH	1,60	1,32	15	$\pm$ 0,73
SDH	2,59	0,51	13	$\pm$ 0,31
LDH	290,0	77,0	15	$\pm$ 42,55
LDH ₁	70,0	24,0	15	$\pm$ 13,26
GOT	73,0	15,2	13	$\pm$ 9,19
GPT	20,5	4,0	15	$\pm$ 2,21
DeRit.	3,62	0,94	13	$\pm$ 0,57
LDH ₁ /LDH	0,24	0,06	15	$\pm$ 0,03

Tabelle 10: Behandlung mit 0,5 ml Chinovetol i.m. - 24h-Werte

CPK	GLDH	SDH	LDH	LDH ₁	GOT	GPT	DeRit.	LDH ₁ /LDH
-	0,5	1,0	175	31	115	27	4,25	0,17
-	1,0	1,0	292	47	100	29	3,44	0,16
-	1,0	1,0	465	129	107	45	2,37	0,27
-	0,2	5,5	292	87	93	62	1,50	0,29
100	2,9	0,8	271	106	70	31	2,25	0,39
69	1,7	2,3	298	75	104	16	6,50	0,25
97	1,4	2,3	240	47	128	27	4,74	0,19
54	1,7	1,4	170	31	107	22	4,86	0,18
50	1,8	1,8	116	39	148	24	6,16	0,33
88	1,6	2,4	124	31	100	25	4,00	0,25

Tabelle 11: Auswertung von Tabelle 10

Enzym	$\bar{x}$	s	n	Vertr.ber.
CPK	76,0	22,0	6	$\pm$ 23,08
GLDH	1,38	0,76	10	$\pm$ 0,54
SDH	1,56	0,66	9	$\pm$ 0,51
LDH	244,0	104,0	10	$\pm$ 74,33
LDH ₁	62,0	35,0	10	$\pm$ 25,01
GOT	107,0	20,7	10	$\pm$ 14,79
GPT	30,8	13,3	10	$\pm$ 9,51
DeRit.	4,01	1,65	10	$\pm$ 1,18
LDH ₁ /LDH	0,25	0,08	10	$\pm$ 0,06

Tabelle 12: Behandlung mit 1,0 ml Chinovetol i.m. - 1 h-Werte

CPK	GLDH	SDH	LDH	LDH ₁	GOT	GPT	DeRit.	LDH ₁ /LDH
1008	2,8	4,3	221	120	104	19	5,47	0,54
522	-	6,0	271	80	84	14	6,00	0,29
606	-	5,2	211	80	87	19	4,57	0,37
418	1,1	0,1	250	210	62	27	2,29	0,84
671	0,2	0,9	281	96	62	18	3,44	0,34
671	2,4	3,4	303	112	75	31	2,41	0,36
847	2,9	0,1	390	164	143	40	3,57	0,42
671	0,8	1,1	271	79	67	27	2,48	0,29
418	1,7	0,4	502	55	58	19	3,05	0,10
165	0,9	1,1	557	39	49	19	2,57	0,07
330	1,3	1,8	496	55	70	29	2,41	0,11
330	1,0	0,8	303	55	93	21	4,42	0,18
1100	1,0	2,3	404	112	100	31	3,22	0,27
880	0,5	1,3	297	146	87	19	4,57	0,49
760	0,6	1,2	158	71	76	22	3,45	0,44
920	0,5	1,8	202	121	87	18	4,83	0,59
700	0,5	1,0	132	79	87	25	3,48	0,59
1738	3,1	0,7	512	173	70	32	2,18	0,33
847	2,0	2,0	377	129	67	19	3,52	0,34
710	-	1,7	325	112	70	25	2,80	0,34

Tabelle 13: Auswertung von Tabelle 12

Enzym	$\bar{x}$	s	n	Vertr.ber.
CPK	662,0	249,0	19	$\pm$ 119,0
GLDH	1,37	0,94	17	$\pm$ 0,48
SDH	1,86	1,64	20	$\pm$ 0,77
LDH	323,0	122,0	20	$\pm$ 57,04
LDH ₁	104,0	45,0	20	$\pm$ 21,04
GOT	77,0	14,57	19	$\pm$ 7,08
GPT	23,7	6,5	20	$\pm$ 3,04
DeRit.	3,54	1,1	20	$\pm$ 0,51
LDH ₁ /LDH	0,37	0,19	20	$\pm$ 0,09

Tabelle 14: Behandlung mit 1,0 ml Chinovetol i.m. - 12h-Werte

CPK	GLDH	SDH	LDH	LDH ₁	GOT	GPT	DeRit.	LDH ₁ /LDH
847	0,6	1,6	481	173	393	32	12,28	0,35
453	0,7	1,1	418	96	188	25	7,52	0,22
453	0,2	0,2	433	129	418	18	23,22	0,29
165	0,2	2,9	303	79	180	21	8,57	0,26
165	2,2	2,9	193	29	133	25	5,32	0,15
330	0,5	2,5	327	29	148	21	7,04	0,08
165	4,2	2,1	166	14	133	23	5,78	0,08
418	0,9	1,3	605	43	173	29	5,96	0,07
453	0,5	0,5	339	87	138	29	4,75	0,25
506	1,2	2,1	451	43	119	27	4,40	0,09

Tabelle 15: Auswertung von Tabelle 14

Enzym	$\bar{x}$	s	n	Vertr.ber.
CPK	395,5	208,0	10	$\pm$ 147,0
GLDH	0,78	0,62	9	$\pm$ 0,48
SDH	1,72	0,95	10	$\pm$ 0,68
LDH	372,0	134,0	10	$\pm$ 95,84
LDH ₁	72,0	51,0	10	$\pm$ 36,45
GOT	202,0	110,0	10	$\pm$ 79,0
GPT	25,0	4,4	10	$\pm$ 3,14
DeRit.	6,85	2,44	9	$\pm$ 1,88
LDH ₁ /LDH	0,18	0,10	10	$\pm$ 0,07

Tabelle 16: Behandlung mit 1,0 ml Chinovetol i.m. - 24h-Werte

CPK	GLDH	SDH	LDH	LDH ₁	GOT	GPT	DeRit.	LDH ₁ /LDH
158	1,6	0,2	260	121	198	32	6,18	0,46
100	0,2	0,5	281	79	154	25	6,16	0,28
92	0,3	0,7	132	39	121	25	4,84	0,29
108	0,4	0,6	211	55	176	29	6,06	0,26
100	0,2	0,6	175	47	87	31	2,80	0,26
184	1,3	1,7	240	79	119	27	4,40	0,18
158	0,9	1,0	166	47	84	25	3,36	0,28
108	1,6	0,2	92	31	97	18	5,38	0,33
85	0,7	0,5	184	31	75	14	5,35	0,16
133	1,5	0,6	158	47	104	18	5,77	0,29
274	2,4	1,0	175	55	93	20	4,65	0,31
212	3,7	1,3	240	79	119	33	3,60	0,32
124	1,8	2,9	149	55	111	27	4,11	0,36
167	1,5	1,0	202	55	90	21	4,28	0,27
297	2,9	1,8	281	96	111	25	4,44	0,34
202	2,4	2,0	211	71	193	34	5,67	0,33
184	2,4	2,4	202	63	173	34	5,08	0,31

Tabelle 17: Auswertung von Tabelle 16

Enzym	$\bar{x}$	s	n	Vertr.ber.
CPK	158,0	62,5	17	$\pm$ 32,0
GLDH	1,52	1,01	17	$\pm$ 0,52
SDH	1,12	0,79	17	$\pm$ 0,41
LDH	198,0	52,0	17	$\pm$ 26,74
LDH ₁	62,0	24,0	17	$\pm$ 12,34
GOT	124,0	40,0	17	$\pm$ 20,57
GPT	25,8	6,0	17	$\pm$ 3,09
DeRit.	4,83	1,01	17	$\pm$ 0,52
LDH ₁ /LDH	0,30	0,07	17	$\pm$ 0,04

Tabelle 18: Behandlung mit 3x 1,0 ml Revitorgan (96) s.c.

CPK	GLDH	SDH	LDH	LDH ₁	GOT	GPT	DeRit.	LDH ₁ /LDH
847	1,1	0,7	418	121	53	19	2,78	0,28
165	0,7	0,3	76	24	42	19	2,21	0,31
759	0,3	1,8	390	55	40	18	2,22	0,14
202	-	0,2	315	63	38	19	2,0	0,20
124	2,2	3,2	116	20	42	19	2,21	0,17
671	3,4	1,8	230	63	47	25	1,88	0,27
583	1,1	0,3	327	39	47	19	2,47	0,11
165	2,3	0,9	271	31	45	19	2,36	0,11
165	1,0	3,0	230	31	40	18	2,22	0,13
333	1,8	0,0	315	79	38	19	2,0	0,25

Tabelle 19: Auswertung von Tabelle 18

Enzym	$\bar{x}$	s	n	Vertr.ber.
CPK	401,4	282,0	10	$\pm$ 200,0
GLDH	1,54	0,96	9	$\pm$ 0,74
SDH	1,63	1,17	9	$\pm$ 0,90
LDH	269,0	110,0	10	$\pm$ 78,67
LDH ₁	53,0	31,0	10	$\pm$ 22,15
GOT	43,0	4,8	10	$\pm$ 3,43
GPT	19,4	2,0	10	$\pm$ 1,43
DeRit.	2,24	0,26	10	$\pm$ 0,19
LDH ₁ /LDH	0,20	0,08	10	$\pm$ 0,06

Tabelle 20: Behandlung mit 3x 0,1 ml Revitorgan s.c. und
1,0 ml Chinovetol i.m. - 1 h-Werte

CPK	GLDH	SDH	LDH	LDH ₁	GOT	GPT	DeRit.	LDH ₁ /LDH
1463	-	2,5	315	87	70	32	2,18	0,27
4305	-	0,7	377	104	93	32	2,90	0,27
4340	-	2,3	496	270	83	47	1,76	0,54
2332	1,5	3,5	489	55	100	38	2,63	0,11
2332	1,4	2,6	404	55	123	53	2,32	0,13
1463	0,4	1,7	377	121	119	20	5,95	0,32
1100	0,9	1,7	281	112	73	16	4,56	0,39
583	1,5	0,9	303	47	51	16	3,18	0,15
847	2,4	1,5	327	79	62	19	3,26	0,24
1188	1,7	1,3	339	112	70	16	4,37	0,33
1012	1,9	3,1	271	121	78	18	4,33	0,44
1276	0,3	1,4	488	146	75	18	4,16	0,29
1463	0,2	1,1	481	129	62	16	3,87	0,26
418	0,0	0,9	315	112	87	20	4,35	0,35
165	0,6	0,7	327	121	65	18	3,60	0,37
1551	0,4	0,1	519	104	97	21	4,61	0,20
1463	0,0	1,0	465	71	93	27	3,44	0,15
1276	1,5	0,3	377	71	107	25	4,28	0,18
1276	1,3	3,0	511	164	127	25	5,08	0,32
1012	0,6	3,0	351	121	75	18	4,16	0,34
506	0,5	1,0	240	71	65	18	3,60	0,29
759	2,3	0,5	281	96	78	16	4,87	0,34
671	2,6	0,1	202	104	84	21	4,00	0,51
1276	1,9	2,3	281	63	97	34	2,85	0,22
665	-	0,7	377	86	70	19	3,68	0,22
308	-	1,4	351	159	63	22	2,68	0,45
451	1,3	0,6	418	100	59	13	4,53	0,23
1221	0,2	0,1	271	86	70	16	4,37	0,31
665	1,2	1,7	519	115	52	16	3,25	0,22

Tabelle 21: Auswertung von Tabelle 20

Enzym	$\bar{x}$	s	n	Vertr.ber.
CPK	963,0	417,0	25	$\pm 172,0$
GLDH	1,21	0,74	22	$\pm 0,33$
SDH	1,40	0,99	29	$\pm 0,38$
LDH	371,0	92,0	29	$\pm 35,02$
LDH ₁	106,0	43,0	29	$\pm 16,37$
GOT	81,0	20,0	29	$\pm 7,61$
GPT	21,1	6,4	27	$\pm 2,54$
DeRit.	3,76	0,94	29	$\pm 0,36$
LDH ₁ /LDH	0,29	0,11	29	$\pm 0,04$

Tabelle 22: Behandlung mit 3x 1,0 ml Rev.Org. s.c. und
1,0 ml Chinov. i.m. - 24h-Werte

CPK	GLDH	SDH	LDH	LDH ₁	GOT	GPT	DeRit.	LDH ₁ /LDH
253	2,9	1,2	339	112	208	45	4,62	0,33
418	1,8	2,0	315	104	193	40	4,82	0,33
330	4,2	2,0	260	96	195	40	4,87	0,36
253	0,8	2,3	84	31	107	23	4,65	0,36
165	1,0	2,8	166	63	111	29	3,82	0,37
418	0,0	3,0	92	31	84	25	3,36	0,33
124	4,8	1,8	240	96	49	29	1,68	0,40
116	2,4	1,6	271	96	154	23	6,69	0,35
175	1,7	0,1	240	104	138	23	6,00	0,43
289	1,1	0,2	260	71	93	23	4,04	0,27
281	1,3	0,4	221	96	123	23	5,34	0,43
251	-	1,2	160	79	138	32	4,31	0,49
231	0,3	0,5	221	47	209	13	16,07	0,21
116	1,5	1,0	97	24	123	22	5,59	0,24
175	1,4	1,0	84	28	118	22	5,36	0,33
281	0,4	1,1	175	39	81	23	3,52	0,22

Tabelle 23: Auswertung von Tabelle 22

Enzym	$\bar{x}$	s	n	Vertr.ber.
CPK	242,0	95,0	16	$\pm$ 50,0
GLDH	1,83	1,33	15	$\pm$ 0,73
SDH	1,39	0,88	16	$\pm$ 0,47
LDH	202,0	82,0	16	$\pm$ 43,67
LDH ₁	70,0	32,0	16	$\pm$ 17,04
GOT	133,0	48,0	16	$\pm$ 25,56
GPT	27,2	8,3	16	$\pm$ 4,42
DeRit.	4,58	1,2	15	$\pm$ 0,66
LDH ₁ /LDH	0,34	0,08	16	$\pm$ 0,04

Tabelle 24: Behandlung mit 0,5 ml Leukomycin (20 %)
i.m. - 1 h-Werte

CPK	GLDH	SDH	LDH	LDH ₁	GOT	GPT	DeRit.	LDH ₁ /LDH
-	0,7	0,2	511	96	73	18	4,05	0,18
167	0,1	2,2	108	31	49	18	2,72	0,28
330	0,5	2,3	175	39	58	25	2,32	0,22
409	0,9	2,7	202	63	70	19	3,68	0,31
460	1,5	3,5	271	71	42	19	2,21	0,26
221	-	1,8	158	39	51	18	2,83	0,24
-	-	1,0	512	200	123	19	6,47	0,39
-	0,5	0,4	418	112	84	18	4,66	0,26
184	1,3	0,6	351	182	104	34	3,05	0,51
141	0,3	2,6	339	104	78	27	2,88	0,30
123	0,7	0,1	292	96	96	34	2,64	0,32

Tabelle 25: Auswertung von Tabelle 24

Enzym	$\bar{x}$	s	n	Vertr.ber.
CPK	254,0	129,0	8	$\pm$ 108,0
GLDH	0,72	0,45	9	$\pm$ 0,35
SDH	1,58	1,17	11	$\pm$ 0,79
LDH	303,0	138,0	11	$\pm$ 92,79
LDH ₁	94,0	56,0	11	$\pm$ 37,65
GOT	75,0	24,7	11	$\pm$ 16,61
GPT	22,6	6,4	11	$\pm$ 4,30
DeRit.	3,10	0,79	10	$\pm$ 0,57
LDH ₁ /LDH	0,28	0,06	10	$\pm$ 0,04

Tabelle 26: Behandlung mit 0,5 ml Leukomycin (20 %)
i.m. - 24h-Werte

CPK	GLDH	SDH	LDH	LDH ₁	GOT	GPT	DeRit.	LDH ₁ /LDH
184	-	1,8	364	121	51	51	2,83	0,33
208	-	1,0	240	69	81	81	3,85	0,28
120	0,9	1,2	377	55	227	23	9,86	0,14
265	1,3	1,0	286	71	232	23	10,08	0,24
289	1,9	1,8	303	117	-	19	-	0,38

Tabelle 27: Auswertung von Tabelle 26

Enzym	$\bar{x}$	s	n	Vertr.ber.
CPK	213,0	67,0	5	$\pm$ 83,30
GLDH	1,37	0,5	3	$\pm$ 1,24
SDH	1,36	0,4	5	$\pm$ 0,50
LDH	314,0	57,0	5	$\pm$ 70,86
LDH ₁	87,0	30,0	5	$\pm$ 37,30
GOT	148,0	95,0	4	$\pm$ 151,0
GPT	20,8	2,3	5	$\pm$ 2,86
DeRit.	6,66	3,9	4	$\pm$ 6,20
LDH ₁ /LDH	0,27	0,09	5	$\pm$ 0,11

Tabelle 28: Behandlung mit 1,0 ml Leukomycin (20 %)
i.m. - 1 h-Werte

CPK	GLDH	SDH	LDH	LDH ₁	GOT	GPT	DeRit.	LDH ₁ /LDH
199	1,1	1,5	164	128	67	14	4,78	0,78
167	0,6	1,6	136	96	87	18	4,83	0,70
486	-	1,7	193	104	67	14	4,78	0,53
493	0,1	1,5	378	149	70	14	5,00	0,39
512	2,7	3,6	433	138	93	14	6,64	0,31
548	3,1	2,9	433	182	86	17	5,05	0,42
843	0,9	3,9	-	271	-	-	-	-
843	0,4	2,5	-	184	-	-	-	-
541	1,0	2,6	-	184	-	-	-	-

Tabelle 29: Auswertung von Tabelle 28

Enzym	$\bar{x}$	s	n	Vertr.ber.
CPK	515,0	234,0	9	$\pm$ 180,18
GLDH	1,24	1,08	8	$\pm$ 0,90
SDH	2,42	0,92	9	$\pm$ 0,71
LDH	290,0	140,0	6	$\pm$ 146,89
LDH ₁	160,0	53,0	9	$\pm$ 40,81
GOT	78,0	11,6	6	$\pm$ 12,17
GPT	15,2	1,7	6	$\pm$ 1,78
DeRit.	5,18	0,72	6	$\pm$ 0,76
LDH ₁ /LDH	0,52	0,18	6	$\pm$ 0,19

Tabelle 30: Behandlung mit 1,0 ml Leukomycin (20 %)
i.m. - 24h-Werte

CPK	GLDH	SDH	LDH	LDH ₁	GOT	GPT	DeRit.	LDH ₁ /LDH
375	2,7	2,5	315	129	87	-	-	0,40
528	7,1	6,0	490	219	84	14	6,0	0,44
487	6,6	5,7	351	164	93	34	2,73	0,46
-	6,0	-	149	-	154	25	6,16	-
-	-	-	377	110	84	34	2,47	0,29
-	3,4	5,0	132	100	138	19	7,26	0,75
-	4,8	7,0	481	90	45	18	2,50	0,18
167	2,5	2,3	351	138	190	23	8,26	0,39
297	2,6	2,7	327	129	180	23	7,82	0,39
418	1,6	2,8	315	129	84	23	3,65	0,40

Tabelle 31: Auswertung von Tabelle 30

Enzym	$\bar{x}$	s	n	Vertr.ber.
CPK	379,0	132,0	6	$\pm$ 138,49
GLDH	4,14	2,02	9	$\pm$ 1,56
SDH	4,25	1,87	8	$\pm$ 1,56
LDH	329,0	117,0	10	$\pm$ 83,68
LDH ₁	134,0	39,0	19	$\pm$ 30,03
GOT	114,0	48,0	10	$\pm$ 34,30
GPT	23,7	6,7	9	$\pm$ 5,16
DeRit.	5,21	2,38	9	$\pm$ 1,83
LDH ₁ /LDH	0,41	0,15	9	$\pm$ 0,12

IV. DISKUSSION

In der Fachliteratur sind einige Angaben über Enzymaktivitäten bei Ratten zu finden, aus denen hervorgeht, daß sich diese Werte mit zunehmendem Gewicht und Alter ändern.

WEIGERT (3) hat bei seinen Untersuchungen beachtenswerte geschlechtsspezifische Unterschiede für einige Enzyme gefunden, die er zum grössten Teil sogar statistisch sichern konnte.

Bei dem von mir verwendeten heterogenen Material konnten die genannten Unterschiede nicht berücksichtigt werden und spielten bei meiner Untersuchung auch keine Rolle. Eine geringe geschlechtsbedingte Schwankung bei den einzelnen Enzymaktivitäten konnte das Ergebnis nicht beeinflussen. Die wichtigere Voraussetzung für brauchbare Resultate aus Enzymbestimmungen ist die einwandfreie Gewinnung und Verarbeitung des Untersuchungsmaterials.

Bei der Blutgewinnung war manchmal zu bemerken, daß sich proportional zur Entblutungsdauer das Verhältnis Blutserum/Blutkuchen zu Gunsten des Blutserums änderte. Dieses Phänomen ist darauf zurückzuführen, daß bei längerer Entblutungsdauer durch das Konzentrationsgefälle Interzellularflüssigkeit mobilisiert wird und die Blutflüssigkeit "verdünnt". Unmittelbar nach der Blutentnahme wurden die Proben zentrifugiert und das Serum zur Messung gebracht. Eventuell zurückgebliebene Fibrinschlieren, wie sie oft im Rattenserum zu finden sind, müssen entfernt werden, da sie das Messergebnis verfälschen können. Auch hämolytisches Serum ist unbrauchbar, weil die in Erythrozyten enthaltenen Enzyme das ursprüngliche Enzymmuster verzerren und das verfärbte Serum zu falschen Farbreaktionen führt. Zur Überprüfung der Reagenzien wurden für einige Enzyme Kontrollmessungen mit "Precinorm^R" durchgeführt. Da hierbei eine höchst geringfügige Schwankungsbreite festzustellen war, die durchaus der Norm entspricht, ist anzunehmen, daß auch bei meinen Untersuchungen keine bedeutenden Messfehler aufgetreten sind. Zudem wurden immer gleiche Reagenziensätze verwendet, so daß auch hierdurch keine Fehler in den Ergebnissen entstanden sein dürften.

Rattenversuche:

Die Entblutungsmethode mit Hilfe eines Aortenkatheders nach WEIGERT (30) ist neben den Vorteilen der von FÖRG (5) beschriebenen Entblutung durch Carotiskatheder (die aber unbedingt eine tiefe Narkose erfordert) auch noch in relativ kurzer Zeit durchführbar. Bei einiger Übung ist eine Entblutung nach Eintreten der Narkose in 2 - 3 Minuten möglich.

Die früher oft verwendete Herzpunktion hat den Nachteil der äußerst geringen Blutmenge und führt sehr häufig zu einer Hämolyse. Zu meinen Untersuchungen, die mit der Mikromethode durchgeführt wurden, benötigte ich pro Tier etwa 7 - 8 ml Blut. Bei der Herzpunktion hätte ich aber pro Ratte nur soviel Serum bekommen, daß höchstens ein Teil der Bestimmungen hätte durchgeführt werden können. Zudem ist bei hämolytischem Serum die Aktivität der in Erythrozyten enthaltenen Enzyme nicht abzugrenzen, bei stärkerer Hämolyse eine Messung der Aktivitäten undurchführbar. Der einzige Vorteil der Herzpunktion ist, daß von demselben Tier Doppelbestimmungen durchgeführt werden können. Da aber bei meinen Versuchen unter anderem Enzyme nachzuweisen waren, die aus dem Herzmuskel stammen können, war es unmöglich, diese Methode anzuwenden. Die Traumatisierung des Herzmuskels durch den Einstich mit der relativ dicken Kanüle hätte durch die Zerstörung von Zellen vermutlich grosse Mengen von Enzymen freigesetzt, die auf das Enzymmuster im Serum einen bedeutenden Einfluss gehabt hätten. So hätte ein CPK-Anstieg z.B. kaum eine Aussage bezüglich der Skelettmuskelschädigung nach intramuskulärer Injektion zugelassen, da die Aktivitätserhöhung auch auf die Traumatisierung des Herzmuskels zurückgeführt werden konnte. Nur unter dem Ausschluss von Herzmuskelläsionen sind Erkrankungen bzw. Veränderungen in der Skelettmuskulatur anhand von Enzymaktivitäten zu diagnostizieren.

Aktivitätssteigerungen von Enzymen, die durch die Barbituratnarkose hervorgerufen werden können (WESTHUES und FRITSCH, 31) waren nicht zu erwarten, da die Ratten sofort nach Eintritt der Narkose (3 - 5 Minuten nach der intraperitonealen Injektion des Barbiturates) entblutet wurden. Zudem können durch

die Applikationsart Veränderungen muskelspezifischer Enzyme ausgeschlossen werden.

Wenn sich doch irgendeine durch die Narkose bedingte Veränderung ergeben hat, ist der Einfluss bei allen Kontroll- und Versuchstieren etwa gleich, bei Gruppenunterschieden ohne Bedeutung und kann somit vernachlässigt werden.

Auffallend war, daß die mit Leukomycin^R behandelten Ratten schneller als die übrigen Versuchstiere auf das Barbiturat reagierten, obwohl allen Tieren die gleiche Dosis verabreicht wurde (0,05 - 0,1 ml/100 g KG).

Vermutlich war durch Leukomycin^R eine Leberschädigung eingetreten, welche die Wirksamkeit der Barbiturnarkose erhöhte. Bei Durchsicht der Literatur fällt auf, daß über tierexperimentelle Untersuchungen von Enzymen wenige Berichte mit teils sehr unterschiedlichen Ergebnissen vorliegen, die auf die verschiedenen Messeinheiten und Blutgewinnungsarten zurückzuführen sind.

Im Gegensatz zu gut bekannten "Normalwerten" beim Menschen fehlen diese für die üblichen Labortiere, unter anderem auch für die Ratte, obwohl ihre Kenntnis für bestimmte experimentelle Fragestellungen sicher von großer Bedeutung wäre. Ich habe daher an unbehandelten Ratten Bestimmungen der vorher genannten Enzyme durchgeführt und die gewonnenen Ergebnisse mit den diversen Angaben in der Literatur verglichen. Meine "Normalwerte" entsprechen in etwa denen von WEIGERT (30). Es ist mir aber unmöglich, eine Erklärung für die Unterschiede zu den Werten anderer Untersucher zu geben, da wie schon erwähnt, die Höhe der Serumenzymaktivitäten vom Einfluss vieler Faktoren abhängen kann.

HEROLD und KEMPER (12) haben bei jungen Ratten vermehrte Enzymaktivitäten im Vergleich zu den älteren Tieren gefunden. Die gleichen Autoren weisen auch auf die Kenntnis der "Normalwerte" des jeweiligen Rattenstammes hin, die, wie aus einem Vergleich einiger Angaben hervorgeht, einen wesentlichen Faktor bei der Beurteilung von Enzymaktivitäten darstellt. Vor allem die Unterschiede der GPT scheinen durchaus stammspezifisch zu sein; der weite Bereich der GOT-Werte

ist z.T. auch durch die Bestimmung von Enzymen, die in Erythrozyten enthalten waren, zu erklären, da gerade die Gewinnung von Rattenserum nicht immer hämolysefrei gelingt. Werden diese Voraussetzungen aber beachtet, so sind GOT-Werte durchaus für eine Beurteilung, etwa bei der Prüfung der Toxizität einer Substanz verwertbar.

Definitiv muß betont werden, daß nur durch Ermittlung eigener "Normalwerte" die Aussagekraft der jeweiligen Ergebnisse fundiert werden kann.

Neben der Untersuchung der "Normalwerte", d.h. der physiologischen Serumaktivitäten, behandelte ich u.a. 20 Ratten intramuskulär mit 1,0 ml physiologischer Kochsalzlösung, um die mechanische Schädigung des Muskelgewebes darzustellen, die durch den Druck der Flüssigkeitsmenge hervorgerufen wird. Dabei kam es zu keiner Aktivitätserhöhung der muskelspezifischen Enzyme. Die Aktivität der CPK sank aus mir unerklärlichen Gründen nach 1 Stunde gegenüber dem Kontrollwert sogar in geringem Maße ab. Nach 24 Stunden war der Normalwert wieder erreicht. Es ist möglich, daß dieser Aktivitätsunterschied geschlechtsbedingt ist, da für die Ermittlung der "Normalwerte" rein willkürlich vor allem weibliche Ratten, für den Kontrollversuch mit der physiologischen Kochsalzlösung nach 1 Stunde ebenso willkürlich nur männliche Ratten verwendet wurden. Die Versuchsgruppe für die 24 Stunden-Werte bestand wieder aus weiblichen Tieren. Für die folgenden Versuche ist der Unterschied zwischen den beiden Kontrollgruppen ohne Bedeutung, da er auf jeden Fall erkennen läßt, daß die intramuskuläre Injektion einer bestimmten Menge physiologischer Kochsalzlösung allein keine Aktivitätssteigerung von Enzymen hervorzurufen vermag.

1. Modellversuch:

Die intramuskuläre Injektion von 0,5 ml Chinovetol^R führte nach 1 Stunde zu Aktivitätssteigerungen der CPK, LDH und GOT. Die CPK, das am meisten muskelspezifische Enzym, war bei gleicher Streuung um das 3fache des Kontrollwertes erhöht. Wenn man bedenkt, daß auf die doppelte Menge physiologischer Kochsalzlösung keine Reaktion erfolgte, ist anzunehmen, daß

die Veränderung durch das Medikament selbst hervorgerufen wurde. Die Aktivitätssteigerung der CPK bei der relativ kleinen Läsion ist damit zu erklären, daß dieses Enzym in hoher Konzentration in der Skelettmuskulatur zu finden ist. (SCHMIDT, 27)

Da die CPK nur im Zytoplasma der Zellen vorkommt, ist bei jeder Permeabilitätsänderung der Muskelzellmembranen ein CPK-Anstieg zu erwarten.

Die CPK reagiert folglich schnell und empfindlich, fällt aber ebenso rapid wieder ab, da sie ausserhalb der Zelle sehr bald inaktiviert wird. 24 Stunden später war ein deutliches Absinken der Aktivität im Serum festzustellen.

Die LDH hingegen zeigte nach 24 Stunden kaum einen Aktivitätsabfall. Nach SCHMIDT (2) wird ihre Aktivität im Serum über 2 Tage hinweg erhalten.

Bei der Injektion von 1,0 ml Chinovetol^R wurden Enzymaktivitäten nach 1 Stunde, nach 12 Stunden und nach 24 Stunden gemessen. Auch hier stellte die CPK einen empfindlichen Indikator von Skelettmuskelläsionen dar. Die CPK-Aktivität war nach 1 Stunde am höchsten und fiel nach 12 Stunden stetig ab. Die Reaktion auf diese Menge Chinovetol^R war offensichtlich stärker als im vorhergehenden Versuch. LDH und GOT zeigten nach 12 Stunden einen höchst signifikanten Anstieg, um nach 24 Stunden wieder langsam abzufallen.

Aus diesen Modellversuchen ist zu ersehen, daß vor allem die CPK bei frischen Läsionen schnelle und deutliche Reaktionen zeigt, die aber nach relativ kurzer Zeit wieder verschwinden. Es zeigt sich ferner, daß schon geringe Mengen eines Medikaments, in unserem Falle Chinovetol^R, die Muskulatur lokal soweit schädigen können, daß ein signifikanter Anstieg muskelspezifischer Enzyme hervorgerufen wird, der bei meinen Versuchen auch statistisch gesichert werden konnte. Weiterhin stellt die CPK einen guten Indikator für Grad und Ausmaß der Muskelschädigung dar, wie die unterschiedliche Reaktion auf die beiden Injektionen zeigt.

Eine sekundäre Beteiligung der Leber kann bei diesem Medikament insofern ausgeschlossen werden, als die GPT, die

zusammen mit der GOT als Indikator für Leberzellschäden gilt, fast nicht erhöht ist und auch keine Reaktion der SDH und GLDH vorliegt. Die Ergebnisse dieses Versuchs, nämlich die Erhöhung der CPK, GOT und LDH stimmen mit den Beobachtungen ZÖLLNERs (32) überein, der diesen Effekt neben Traumatisierung der Muskulatur sogar schon bei Überanstrengung beobachten konnte.

2. Modellversuch:

Der Versuch, die Widerstandsfähigkeit der Muskulatur zu erhöhen und damit die sekundären starken Enzymreaktionen auf die intramuskulären Injektionen abzuschwächen, schlug insofern fehl, als die Ergebnisse eine zusätzliche starke Aktivierung der muskelspezifischen Enzyme aufzeigten.

Zur Kontrolle der Revitorganwirkung behandelte ich zehn Ratten 3 Tage lang mit je 1,0 ml Revitorgan Dilution Nr. 96 subkutan, wobei nach Messung der Enzymaktivitäten signifikant erhöhte Werte der CPK und LDH auftraten, die kaum auf eine lokale Reaktion der Muskulatur zurückzuführen waren. Die Vorbehandlung sollte eine bessere Verträglichkeit des Medikaments gewährleisten, d.h. die Muskulatur sollte gekräftigt und vor lokaler toxischer Wirkung der intramuskulären Injektionen des Medikaments geschützt werden.

Wie auch die weiteren Versuche zeigen, hat sich zwar eine Wirkung ergeben, die aber entgegen unserer Annahme eine stärkere Enzymaktivität im Serum hervorrief, als sie durch Chinovetol^R allein verursacht worden war.

Zum Verhalten der Enzyme nach Verabreichung der Revitorgan-Dilution können keine verbindlichen Angaben gemacht werden.

Zur Klärung der näheren Zusammenhänge sind morphologische Untersuchungen (histologische, histochemische, elektronenmikroskopische etc. Befunderhebungen) am Injektionsort notwendig.

Wie durch den Kontrollversuch zu erwarten war, traten bei den so vorbehandelten Tieren nach intramuskulärer Injektion von Chinovetol^R viel stärkere Enzymreaktionen auf, als bei den vorhergehenden Versuchsgruppen.

Bei der Blutentnahme nach 1 Stunde ergab sich gegenüber der

Vergleichsgruppe, die nur mit Chinovetol behandelt worden war, eine signifikante Erhöhung der CPK, die sogar statistisch zu sichern war, genauso wie die vergleichbaren Werte nach 24 Stunden, die zwar einen rapiden Abfall zeigten, sich aber doch noch signifikant unterschieden.

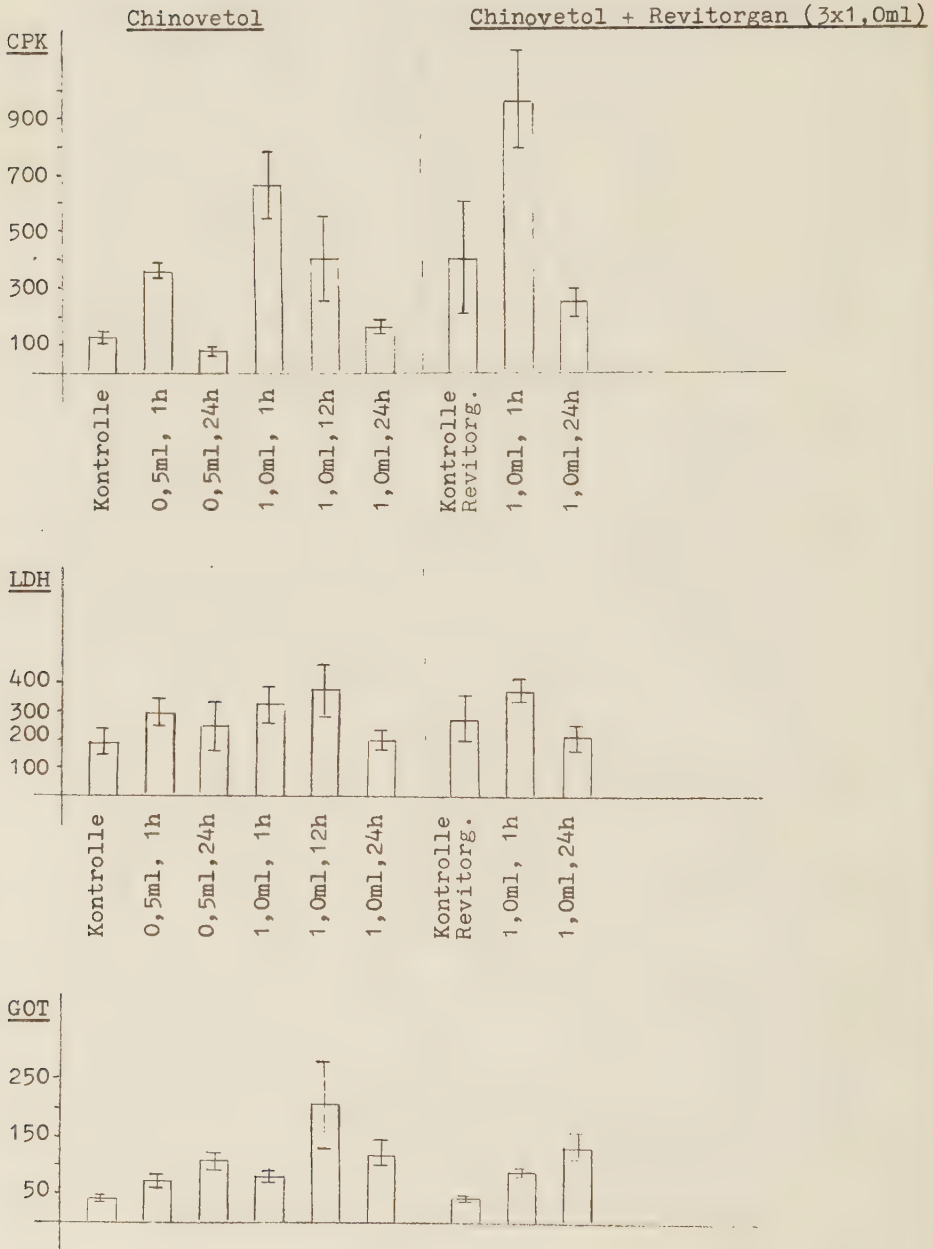
Bei der LDH waren bei den vergleichbaren Gruppen nur unwesentliche Unterschiede festzustellen. Dagegen zeigte die GOT bei der Vorbehandlung mit Revitorgan bis zu 24 Stunden einen linearen Anstieg. Dieser Aktivitätsanstieg ist wie folgt zu erklären:

Nachdem durch die Einwirkung des Medikaments die Zellmembran zerstört und die im Zytoplasma befindliche GOT freigesetzt wurde, wurden allmählich durch Autolyse die Organellen angegriffen, wobei dann auch die in den Mitochondrien befindliche GOT im Serum nachzuweisen war. Der beschriebene Vorgang war bei allen vorhergehenden Versuchsreihen, die mit einer GOT-Erhöhung einhergingen, zu beobachten, nur trat er bei der Vorbehandlung mit Revitorgan Dilution besser in Erscheinung, weil die Zellmembranen durch diese Substanz offenbar schon angegriffen waren und ihre Zerstörung durch die intramuskuläre Injektion von Chinovetol^R in grösserem Umfang erfolgte als bei den Versuchen ohne Vorbehandlung mit Revitorgan.

Die Messung der GOT-Aktivität kann also, wie auch GERBER (7) berichtet, als spezifisches Indiz von Muskelerkrankungen angesehen werden, wenn Leberschäden auszuschließen sind. Die Enzyme, die u.a. für die Diagnostik von Lebererkrankungen verwendet werden, wie GPT, SDH und GLDH, zeigten bei meinen Versuchen keine signifikanten Veränderungen, so daß die GOT-Erhöhung auf einen Muskelschaden zurückgeführt werden kann. Eine Aktivitätssteigerung der GOT ist bei gleichbleibender GPT mit einer Erhöhung des DeRitis-Quotienten verbunden, der somit auch einen Hinweis auf eine Skelettmuskelschädigung gibt.

Die folgende Abbildung zeigt einen Vergleich der Versuchsreihen untereinander.

Vergleich einiger Versuchsreihen untereinander



3. Modellversuch:

Neben der Behandlung mit Chinovetol^R führte ich Untersuchungen mit Leukomycin^R (20 %) durch, das wegen seines breiten Wirkungsspektrums sehr gerne zur Therapie vieler Erkrankungen verwendet wird.

Die intramuskuläre Injektion von 0,5 ml Leukomycin^R führte nach 1 Stunde zu einer Aktivitätserhöhung der CPK, LDH und GOT. Diese Erscheinung ist auf die lokale Schädigung des Muskelgewebes durch das Medikament zurückzuführen und aus den vorhergehenden Versuchen wohlbekannt. Der Aktivitätsabfall der CPK nach 24 Stunden ist bei dieser Versuchsreihe jedoch nicht so eklatant. Die LDH zeigte nach 24 Stunden einen weiteren Anstieg, wobei aber die LDH₁ und damit der Quotient LDH₁/LDH abfiel. Der weitere GOT-Anstieg nach 24 Stunden ist wieder mit der vorher genannten Reaktion zu erklären.

Die intramuskuläre Injektion von 1,0 ml Leukomycin^R führte durch die größere Menge des Medikamentes zu einer weiteren Erhöhung der CPK, die nach 24 Stunden wie beim vorhergehenden Versuch nur langsam wieder abfiel. Die LDH zeichnete sich wie GOT durch den weiteren Anstieg nach 24 Stunden aus. Die Veränderungen bei diesem Modellversuch waren ebenso wie die vorhergehenden auf lokale Skelettmuskelläsionen zurückzuführen, die durch die Injektion des Medikamentes hervorgerufen wurden. Bei dem letzten Versuch mit Leukomycin^R aber kamen nach einer Resorptionszeit von 24 Stunden signifikante Veränderungen der SDH und GLDH hinzu, die darauf hinweisen, daß neben der lokalen Muskelschädigung sekundär die Leber angegriffen wurde.

Die SDH ist nach SCHMIDT (27) ein leberspezifisches Enzym, das erst bei schweren Leberschädigungen im Serum ansteigt, vor allem bei Intoxikationen. Auch die GLDH, die in den Mitochondrien lokalisiert ist, kann nur bei Zellnekrosen ins Serum übertreten.

Die Toxizität des Medikamentes war schon äußerlich am Verhalten der Tiere zu erkennen. Sie waren 24 Stunden nach der Injektion von Leukomycin^R völlig apathisch und zeigten ein gesträubtes Fell.

Die therapeutische Anwendung von Leukomycin^R ist weit verbreitet. Bisher wurde es als eines der am besten verträglichen Breitspektrum-Antibiotika bezeichnet, wenn man von der Schädigung der blutbildenden Organe und der Niere nach Langzeitbehandlung absieht.

Meine Versuche zeigten als Nebentbefund eine signifikante Erhöhung der leberspezifischen Enzyme 24 Stunden nach intramuskulärer Injektion der Leukomycin^R-Lösung.

Das heißt, daß die einmalige Injektion dieses Präparates offenbar wenn auch nur vorübergehende und geringgradige Leberschäden verursacht. Die Konsequenz daraus ist, daß man bei der Anwendung dieses Handelspräparates bei leberkranken Tieren sehr zurückhaltend sein sollte.

Aus den Untersuchungen ist ersichtlich, wie wichtig selbst in harmlos erscheinenden Fällen die Bestimmung eines Enzymmusters sein kann.

Wenn man nun die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit in ihrer Gesamtheit betrachtet, wird man feststellen, daß intramuskuläre Injektionen bestimmter Medikamente, die zu therapeutischen Zwecken verabreicht werden, zu signifikanten Aktivitätsänderungen einiger Enzyme im Serum führen können.

Diese Enzyme können als muskelspezifisch bezeichnet werden, wenn keine Anzeichen einer anderen Erkrankung vorliegen. Für den Kliniker ist bei einer Enzymuntersuchung zu berücksichtigen, ob vor der Blutentnahme intramuskuläre Injektionen vorgenommen wurden. Diese können auf das Enzymmuster im Serum einen so großen Einfluß haben, daß das wirkliche Krankheitsbild von der Laboruntersuchung her verschleiert bleiben würde.

Auf der anderen Seite zeigen gerade die Ergebnisse der Versuchsreihen mit der Leukomycin^R-Lösung, daß man in Zukunft wohl noch bei vielen bisher arglos angewendeten Medikamenten empfindliche Laboruntersuchungen, wie z.B. Bestimmungen von Enzymmustern durchführen sollte, um die tatsächliche Verträglichkeit von Medikamenten zu erkennen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Thema der vorliegenden Arbeit war die Feststellung der Veränderung muskelspezifischer Enzyme im Zusammenhang mit der intramuskulären Verabreichung von Medikamenten bei Tieren. Zu den Versuchen wurden 202 weiße Ratten verwendet.

Die Entblutung erfolgte über die Aorta abdominalis in Zeitabständen von 1 Stunde, z.T. 12 Stunden und 24 Stunden post injectionem in Narcoren^R-Narkose.

Die Serumaktivitäten der CPK, GLDH, SDH, LDH, LDH₁, GOT und GPT wurden über ein Filterphotometer der Fa. Eppendorf bestimmt.

Bei den Modellversuchen mit Chinovetol^R waren abhängig von der injizierten Menge signifikante Aktivitätserhöhungen der CPK, LDH und GOT festzustellen, wobei die CPK die schnellste und stärkste Reaktion zeigte.

Nach 1 Stunde war das Maximum erreicht, nach 24 Stunden erfolgte mehr oder weniger der Abfall zur Norm.

Die LDH reagierte insgesamt mäßiger und kehrte nach einem Maximum 12 Stunden post injectionem zum Ausgangswert zurück. Die GOT war durch einen weiteren starken Anstieg nach 12 Stunden gekennzeichnet, der bis zu 24 Stunden noch deutlich zu erkennen war. Der DeRitis-Quotient war demzufolge bei unbedeutender Reaktion der GPT erhöht.

Die 3-tägige Vorbehandlung mit Revitorgan führte zu einer weiteren signifikanten Aktivitätserhöhung der vorhin genannten Enzyme, wobei wieder die CPK nach 1 Stunde die stärkste Reaktion zeigte, der Abfall zur Norm nach 24 Stunden aber langsamer vor sich ging als im ersten Versuch.

Die LDH hatte ebenfalls nach 1 Stunde das Maximum erreicht. Die GOT zeigte wiederum nach 24 Stunden einen weiteren Anstieg. Da sich auch bei diesem Versuch keine wesentliche Aktivitätssteigerung der GPT zeigte, war der DeRitis-Quotient wieder erhöht.

Die Vorbehandlung mit Revitorgan verursachte einen wesentlich höheren Aktivitätsanstieg der Enzyme im Serum als es bei den Vergleichsgruppen im vorhergehenden Versuch der Fall war.

Die intramuskuläre Injektion von Leukomycin^R führte wie bei den Versuchen mit Chinovetol^R zu deutlichen Aktivitätssteigerungen der CPK, LDH und GOT.

Die Reaktion der Enzyme war wieder von der verabreichten Menge des Medikamentes abhängig.

Die CPK zeigte die gewohnte starke Reaktion nach 1 Stunde, fiel aber nach 24 Stunden nur wenig ab.

Die GOT stieg ebenso wie die LDH nach 24 Stunden weiter an. Gleichzeitig war ein Aktivitätsabfall der LDH₁ zu bemerken. Zudem ergab sich nach 24 Stunden eine deutliche Reaktion der GLDH und SDH. Da diese Enzyme als leberspezifisch gelten, ist ein durch das Medikament verursachter sekundärer Leberschaden nicht auszuschließen.

Die Auswertung aller Versuche zeigt, daß die CPK einen sicheren Indikator auch bei geringgradigen Skelettmuskelschäden darstellt, und daß intramuskuläre Injektionen von Medikamenten größere Mengen von muskelspezifischen Enzymen freisetzen können, was bei Laboruntersuchungen unbedingt berücksichtigt werden sollte.

SUMMARY

Subject of the present study was to determine the change of muscle-specific enzymes in connection with the intramuscular delivering of medicaments to animals.

For these tests 202 white rats were used.

The exsanguination was done by the Aorta abdominalis in intervals of 1 hour, partly 12 hours and 24 hours post injectionem.

The serum activities of CPK, GLDH, SDH, LDH, LDH₁, GOT and GPT were determined by a filter-photometer of the Eppendorf company. During the tests with Chinovetol^R one could notice significant elevated activities of CPK, LDH and GOT, corresponding to the injected quantity, at which CPK was producing the most sudden and intense reaction.

After 1 hours time the maximum was reached, after 24 hours time there happened less or more a tide to the norm.

LDH reacted more moderately at the whole and after a maximum 12 hours post injectionem returned to the initial value.

GOT was signified by a further strong increase after 12 hours time, which after 24 hours time was still clearly to recognize too. The DeRitis-quotient was accordingly higher by an unimportant reaction of GPT.

The 3-days lasting previous treatment with Revitorgan induced a farther significant activity-enrichment of the previously mentioned enzymes in the serum, at which CPK again after 1 hours time was showing the strongest reaction, but the decrease to the norm after 24 hours time was slower than in the first experiment.

LDH had its maximum after 1 hours time as well.

GOT anew had further increase after 24 hours. Because there was no important increase of activity of GPT during this experiment, the DeRitis-quotient was elevated again.

The pretreatment with Revitorgan-dilution was causing an essentially stronger increase of activity of enzymes in the serum than it happened to be in comparison with the groups in the previous experiment.

The intramuscular injection of Leukomycin^R induced as in the experiments with Chinovetol^R, obvious increases of activity of CPK, LDH and GOT.

The reaction of enzymes was anew dependent on the quantity of the medicament. CPK was showing the wonted heavy reaction after 1 hours time, but it decreased after 24 hours time just a little. GOT still raised up as well as LDH after 24 hours time.

At the same time a decrease of LDH₁ could be noticed. Furthermore, after 24 hours time happened an obvious reaction of GLDH and SDH. As the enzymes are considered to be liverspezifisch, a secondary liver lesion caused by the medicament can't be excluded.

The exploitation of all these experiments shows, that the CPK is representing a certain indicator even with minimal musculo-skeletal lesions, and that intramuscular injections of medicaments can release quantities of serum-enzymes, which should absolutely be taken into consideration with clinical laboratory tests.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Abderhalden, R. Klin. Enzymologie, Thieme,
Stuttg. 1958
- (2) Berns, S. Vet.med.Diss. München 1962
- (3) Cornelius, C. et al Amer.J.Vet.Res. 19 (1958) 560
Amer.Vet.Med.Ass. 142 (1963) 639
- (4) Dixon, W.J. Biometrics 9 (1953) 74-89
- (5) Förg, O. Vet.med.Diss. München 1970
- (6) Freudiger, U. Schw.Arch.f.Tierheilk. 114 (1972) 49
- (7) Gerber, H. Schw.Arch.f.Tierheilk. 106 (1964) 85
- (8) Gürtler, H. Zbl.Vet.Med. 7 (1960) 160
- (9) Gray in Bedrak J.appl.Physiol. 20 (1965) 591
- (10) Hansen, M.A. Nord.Vet.Med. 22 (1970) 617
- (11) Hebold, G. Z.Versuchstierk. 14 (1972) 17
- (12) Herold, E. und Z.Versuchstierk. 10 (1968) 285
Kemper, F.
- (13) Hess, B. Enzyme i.Blutplasma, Thieme,
Stuttg. 1962
- (14) Highman, B. und Amer.J.Physiol. 196 (1959) 436
Maling, H. und
Thompson, E.
- (15) Karlson, P. Kurz.Lehrb.d.Biochemie, Thieme,
Stuttg.1970
- (16) Kazmeier, F. Münch.med.Wschr. 106 (1964) 561
- (17) Keller, P. und Schw.Arch.f.Tierheilk. 113 (1971)
Gerber, H. 627
- (18) Keller, P. et al Schw.Arch.f.Tierheilk. 114 (1972)
157
- (19) Klinger, W. et al Z.Versuchstierk. 14 (1972) 290
- (20) Kröner, H. und Z.f.klin.Chemie 5 (1967) 89
Staib, W.
- (21) Laudhan, G. Münch.med.Wschr. 111 (1969) 10

- (22) Lettow, E. Zbl.Vet.Med. 9 (1962) 978
- (23) Lieberman, J. Amer.Int.Med. 46 (1957) o.S.
- (24) Methfessel, J. und Z.f.klin.Chemie 5 (1967) 287
Deml, L.
- (25) Pearson, C.M. und Biometrica Tables for Statisticiane
Hartley, H.O. Cambridge Univ.Press 1954
(Table 24)
- (26) Shapira, G. Compt.rend.Soc.biol. 151 (1957) 22
- (27) Schmidt, E. u. F.W. Enzymfibel, Boehringer,
Mannheim 1969
- (28) Schoen, R. und Bioch.Befunde i.d. DD. innerer
Südhof, H. Krankh., Thieme, Stuttg. 1965
- (29) Vitorgan Informationen, Ruit b. Stuttgart 1970
- (30) Weigert, P. Vet.med.Diss. München 1972
- (31) Westhues, M. und Narkose d.Tiere, Parey,
Fritsch, R. Berlin 1961
- (32) Zöllner, N. Münch.med.Wschr. 105 (1963) 661

Zum Abschluß dieser Arbeit, deren praktischer Teil an der Medizinischen Tierklinik der Universität München durchgeführt wurde, möchte ich dem kommissarischen Vorstand der Medizinischen Tierklinik, Herrn Professor Dr.Dr.h.c. K.Ullrich für die Überlassung des Arbeitsplatzes meinen Dank aussprechen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr.H.Kraft für die Überlassung des Themas und die mir stets gewährte Hilfe bei der Durchführung der Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 11. Januar 1947 wurde ich, Marion Heller, als Tochter des Bauunternehmers Alfred Heller und seiner Ehefrau Maria, geb. Bubetz in München geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule an der Herterichstraße in München trat ich 1957 in das Neusprachliche Gymnasium der Englischen Fräulein in München-Nymphenburg über, von dem ich 1966 mit bestandenem Abitur abging.

Vom Wintersemester 1966/67 bis Sommersemester 1971 studierte ich an der Ludwig-Maximilians-Universität Tiermedizin. Die Bestallung als Tierarzt erhielt ich am 21. Februar 1972.

Vom Juni 1972 bis Mai 1973 fertigte ich die vorliegende Arbeit an der Medizinischen Tierklinik in München an.

